

(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開平10-36256

(43) 公開日 平成10年(1998) 2月10日

(51) Int.Cl. <sup>8</sup>	識別記号	庁内整理番号	F I	技術表示箇所
A 6 1 K 31/12	ADL		A 6 1 K 31/12	ADL
A 2 3 L 1/303			A 2 3 L 1/303	
1/304			1/304	
A 6 1 K 33/30	ABJ		A 6 1 K 33/30	ABJ

審査請求 未請求 請求項の数 5 O L (全 5 頁)

(21) 出願番号 特願平8-193124

(22) 出願日 平成8年(1996) 7月23日

(71) 出願人 593204502

山口 正義

静岡県静岡市瀬名川1239番地の1

(72) 発明者 山口 正義

静岡県静岡市瀬名川1239番地1

(74) 代理人 弁理士 尊 経夫 (外2名)

(54) 【発明の名称】 抗骨粗鬆症組成物

(57) 【要約】

【課題】 継続して摂取して安全な抗骨粗鬆症組成物を提供する。

【解決手段】 ビタミンK<sub>2</sub>と亜鉛を共に強化した、抗骨粗鬆症組成物。

【効果】 亜鉛を併用することにより、副作用を生じることなく少ないビタミンK<sub>2</sub>摂取量で骨作用を得ることができる。

BEST AVAILABLE COPY

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 ビタミンK<sub>2</sub>と亜鉛を共に強化した、抗骨粗鬆症組成物。

【請求項2】 ビタミンK<sub>2</sub>が天然物より抽出した天然ビタミンK<sub>2</sub>である請求項第1項記載の組成物。

【請求項3】 ビタミンK<sub>2</sub>が枯草菌あるいは納豆菌由来である請求項第1項または第2項記載の組成物。

【請求項4】 亜鉛が食品由来である請求項第1項ないし第3項のいずれか1項に記載の組成物。

【請求項5】 固形分1Kg中のビタミンK<sub>2</sub>の含有量が30mg以上、かつ亜鉛の含有量が30mg以上である請求項第1項ないし第4項のいずれか1項に記載の組成物。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】本発明は、有効成分としてビタミンK<sub>2</sub>および亜鉛を共に含む、抗骨粗鬆症組成物に関する。

## 【0002】

【従来の技術】骨粗鬆症は、骨量が減少することによって起こる、骨がもろくなる病態である。骨粗鬆症になると、骨折したり、激しい痛みなどを伴うだけでなく、特に老人の寝たきりの原因ともなるため、高齢化社会に於ける生活の質の向上という観点からも、有効な治療方法が求められている。

【0003】骨粗鬆症の治療薬としては活性型ビタミンD3や女性ホルモン（エストロゲン）、カルシトニン、イブリフラボンが臨床に用いられ、最近になって、ビタミンK<sub>2</sub>に代表されるポリイソプレノイド誘導体の破骨細胞形成抑制作用に基づく抗骨粗鬆症剤（特開平7-215849号公報）も開発されている。

【0004】一方、最近では、骨粗鬆症は発症してから治療するのは困難であることから、予防に努めることが重要であり、若年期から骨量を増やすことが不可欠で、日常的に骨形成に必要な栄養成分や、骨形成を促進する食品を積極的に摂取するようにしなければならないことが深く認識されるようになった。骨を強化する食品としては、現在、主にカルシウムやマグネシウム、ビタミンDが利用されている。また、カルシウムの腸管からの吸収を促進するカゼインホスホペプチドなども利用されている。更には、側鎖長の違いによりメナキノン（MK）-1～14として知られている食品のビタミンK<sub>2</sub>を利用することも考えられている。

## 【0005】

【発明が解決しようとする課題】ところが、骨粗鬆症の治療薬として使用されている活性型ビタミンD<sub>3</sub>、女性ホルモン（エストロゲン）、カルシトニンは副作用や過剰症があることが判り、問題となっている。最近になって、安全性の高い骨粗鬆症治療薬としてビタミンK<sub>2</sub>が利用されるようになったが、治療に使うビタミンK<sub>2</sub>量

は1日に45mgと多くの量を摂取しなければならず、この場合軽微ながら、ときに腹痛、悪心、嘔吐、発疹、頭痛などの副作用があらわれることがある。また、イブリフラボンは長期間に渡って使用した場合の有効性、安全性が不明確である。このように、種々の骨粗鬆症治療薬が開発されているにもかかわらず、長期間にわたって投薬が行われるため副作用等による患者の負担が大きく、必ずしも満足の行く治療効果が発揮されていない。一方、カルシウム等の食品によって骨組成を補強する方法も、骨量増加効果あるいは骨強度を高める効果は充分なものとはいえない。

【0006】また、ビタミンK<sub>2</sub>についてもビタミンK<sub>2</sub>を1ppm以上含む食品は存外少なく、身近な食品ではわずかに納豆（ビタミンK<sub>2</sub>濃度、数～数十ppm）にその例を見出すのみである。その納豆によっても骨粗鬆症治療に有効なビタミンK<sub>2</sub>を摂取しようとした場合、納豆を一日に数百g以上食べなければならず、嗜好上問題がある。そこで、ビタミンK<sub>2</sub>を強化した食品の開発が試みられている。しかし、治療薬のように1日45mg摂取させると、上述したように腹痛、発疹などの副作用が現れることがあるため、これより少ない量しか使用することはできないが、量を減らすと効果が減弱してしまう。

【0007】栄養指導以外に骨に荷重をかけて、骨形成を促進させるために運動が推奨されているが、現実には、高齢になると体力の低下や気力の低下により運動不足になりやすい傾向がみられる。また、当然ながら、運動だけでは骨量、骨強度を十分に維持、増加させることはできない。近年、骨組織中に亜鉛が多く含まれることから、亜鉛の骨形成との関わりが研究され、亜鉛の骨形成作用が確認されている。亜鉛は食品に広く含まれるが、日本人の平均摂取量は6～12mgであり、推奨摂取量（成人15mg、四訂食品成分表1996、女子栄養大学出版社）に対して不足気味である。従って、通常の食事による亜鉛単独の骨作用は望むべくもない。また、動物性食品や微生物を含む食品にはビタミンK<sub>2</sub>も亜鉛もともにごく微量含まれることが多いが、食品中に含まれる量ではこれら2成分の骨に対する効果は大変弱いものである。このように、骨粗鬆症の予防、あるいは治療効果が優れた安全な機能性食品の開発が望まれているにもかかわらず、現状では有効性と安全性をともに解決した製品が開発されていない。

## 【0008】

【課題を解決するための手段】本発明の目的は、上記課題を解決しうる有効な抗骨粗鬆症組成物を提供することにある。本発明者らは、上記の目的を解決するために鋭意研究してきた。その結果、有効成分としてビタミンK<sub>2</sub>と亜鉛とともに与えることにより、不荷重状態で飼育し骨形成に障害のあるラット大腿骨骨幹端部組織に対して、より高い骨増強作用が発揮されることを発見し、骨

粗鬆症の予防あるいは／かつ治療のための機能性食品あるいは組成物を作る場合に、ビタミンK<sub>2</sub>および亜鉛を共に含有せしめることにより、より有効な抗骨粗鬆症組成物を提供できることを見出した。

【0009】すなわち、本発明は、ビタミンK<sub>2</sub>と亜鉛を共に強化した抗骨粗鬆症組成物である。ビタミンK<sub>2</sub>と亜鉛が骨組織に対してどのような機構で作用するのかは定かではないが、おそらく、亜鉛の骨形成促進作用とビタミンK<sub>2</sub>の破骨細胞抑制作用が協調して働くと考えられる。

#### 【0010】

【発明の実施の形態】本発明に利用されるビタミンK<sub>2</sub>は、合成品、天然品いずれも使用できるが、食品として用いる場合、天然由来のものが望ましく、さらに、食経験の長い納豆あるいは枯草菌由来のビタミンK<sub>2</sub>が望ましい。したがって、食品のビタミンK<sub>2</sub>として知られているメナキノン(MK) - 1 ~ 14のいずれも使用できる。また、ビタミンK<sub>2</sub>の製法は特に制限されず、ビタミンK<sub>2</sub>含量の高い納豆菌を発酵した培養液の乾燥物、あるいは納豆菌をそのままビタミンK<sub>2</sub>源として利用することもできる。

【0011】本発明品に利用される亜鉛の由来は特に限定されず、硫酸亜鉛、塩化亜鉛などの無機亜鉛やグルコン酸亜鉛などの他、海水などから製造される天然塩や亜鉛結合タンパク質やペプチド類など食品中の亜鉛濃度を高めた製剤、さらには高濃度の亜鉛を含む食品、例えば乾燥酵母、スッポン粉末、乾燥レバー、牛骨粉、蛎などをそのまま亜鉛源として利用してもよい。

【0012】本発明によって作られた組成物を摂取する場合、症状、年齢などにより摂取量は異なるが、特に限定されない。しかしながら、ビタミンK<sub>2</sub>については摂取量が45mgをこえると副作用が現れることがあるため、好ましくは、通常成人1日あたり0.05mg以上\*

#### 【処方】

原料	配合量
1) 納豆抽出油(ビタミンK <sub>2</sub> 濃度: 500ppm)	200g
2) 乾燥酵母粉末(亜鉛濃度: 150ppm)	280g
3) トウモロコシデンプン	500g
4) 抽出トコフェロール	20g

上記原料を高速ミキサーにて混合して均一な粉末が得られた。この粉末は様々な食品に混合可能である。

#### 【0016】実施例2 飲料

牛乳1リットルに対して、0.1gのビタミンK<sub>2</sub>(メナキノン-4)、10mgの硫酸亜鉛、ココアパウダー0.5g、砂糖30g、ショ糖脂肪酸エステル0.5gを加えて激しく攪拌してココア味の乳飲料が得られた。得られた飲料は、味が良く飲みやすいため、日常継続し\*

#### 【処方】

原料	配合量
ビタミンK <sub>2</sub> 粉末(A)	50mg

\*で45mgより少ない範囲内で、さらに望ましくは、0.1mg以上、10mg以下になるように製品(組成物)を設計することが望ましい。亜鉛についても、摂取量は限定されないが、望ましくは通常、成人、1日あたり0.1mg以上、10mg以下になるように利用されることが推奨される。

【0013】本発明による組成物は、有効成分としてビタミンK<sub>2</sub>と亜鉛が共に含まれていることが重要であって、カルシウム、マグネシウム、鉄、マンガン、銅などのミネラルや、ビタミンD、ビタミンE、ユビキノンなどのビタミン類、さらにイソフラボノイド類や、フラボノイド類、カゼインカルシウムホスホネートなどのペプチド類、その他、タンパク質や脂質など通常の食品成分や食品添加物が含まれていてもなんら構わない。このほか、製剤にあたっては製薬上許容される担体、助剤等を用いて、粉剤、粒剤、錠剤、散剤等とすることができ

る。【0014】ビタミンK<sub>2</sub>も亜鉛も食品中に極く微量含まれていることがあるが、本発明における抗骨粗鬆症剤においては、そのような天然に含有される極少量ではなく、固形分1kg中のビタミンK<sub>2</sub>の含有量が30mg以上(好ましくは40mg以上、更に好ましくは50mg以上)、かつ亜鉛の含有量が30mg以上(好ましくは40mg以上、更に好ましくは50mg以上)であることが望ましい。すなわち、これ以下の濃度では、顕著な効果が発現しにくいという傾向がある。次に、本発明を具体的に説明するため、以下に実施例を掲げるが、本発明はこれらによって限定されるものではない。なお、以下のビタミンK<sub>2</sub>濃度は、高速液体クロマトグラフィー法で測定し、亜鉛濃度は原子吸光法で測定した。

#### 【0015】

##### 【実施例】

##### 実施例1 粉末素材

#### 【0017】実施例3 錠剤

精製ビタミンK<sub>2</sub>(メナキノン-7、濃度98%)20gを大豆油80gに50℃で加熱しながら、溶解した後、デキストリン粉末(松谷化学工業製バインフロー)400gに吸着させて粉末化させてビタミンK<sub>2</sub>粉末(A)を作成した。

食用牛骨粉	100mg
乳糖	150mg
バラチノース	30mg
グルコン酸亜鉛	3mg
還元麦芽糖	10mg
トウモロコシデンプン	10mg
セルロース粉末	10mg
ビタミンD3	20IU (国際単位)

以上の配合比率で、各原料を混合し打錠して錠剤を得た。得られた錠剤は、味がよく、携帯性に優れており、容易に持ち運んで摂取することが可能である。

【0018】

【発明の性能試験】

試験例1 骨粗鬆症改善効果試験

【実験方法の説明】図1に示した様に、ウイスター系ラット（4週齢）1の体をワイヤー2、2で固定し後肢に体重をかけずに、4日間飼育した。この様に後肢不荷重状態で飼育したラット大腿骨の骨形成は障害され、骨粗鬆症のモデルの一つとして研究されている。こうして得られたラット大腿骨骨幹端部（海綿骨）を小片に切り出して、培地の入った35-mm培養皿に移し、ビタミンK<sub>2</sub>と亜鉛の骨粗鬆症改善効果試験に使用した。

【0019】培地は、0.25%の牛血清アルブミンと抗生物質（100単位ペニシリンと100μgストレプトマイシン/ml培地）を含む2.0mlのダルベッコの改変イーグル培地（グルコース濃度4.5g/dl）を使用した。組織培養は、CO<sub>2</sub>インキュベーターを用いて、37℃、水飽和雰囲気下で5%CO<sub>2</sub>および95%空気の条件で48時間行った。ビタミンK<sub>2</sub>は納豆に\*

表1

4日間不荷重状態で飼育したラットの大腿骨骨幹端部組織中カルシウム量に対するビタミンK<sub>2</sub>（MK-7）とZnSO<sub>4</sub>の効果（数値は平均±標準誤差）

添加化合物	カルシウム量 (mg/g dry bone)
コントロール	154.71±5.350
MK-7 (10 <sup>-5</sup> M)	165.89±8.169
ZnSO <sub>4</sub> (10 <sup>-6</sup> M)	188.25±4.515
MK-7 (10 <sup>-5</sup> M)+ZnSO <sub>4</sub> (10 <sup>-6</sup> M)	214.25±9.972

\* p<0.005, \*\* p<0.01

【0023】表1に示すように、ビタミンK<sub>2</sub>を単独添加しても、骨組織中のカルシウム量はコントロールと比較して有意に増加しなかったが、一方で、ZnSO<sub>4</sub>添加でカルシウム量は増加した。このように、ビタミンK<sub>2</sub>単独では効果が現れないにもかかわらずZnSO<sub>4</sub>と併用した場合は、ZnSO<sub>4</sub>単独使用時よりも高い骨組織中カルシウム量の増加効果が認められた。ビタミンK<sub>2</sub>単独で充分な骨作用を示すのに必要な1日成人投

10 \* 含まれるメナキノーン7（MK-7）を純度99.8%まで精製し、エタノールに溶解して1mMに濃度調整したものを使用した。

【0020】培地に、①納豆由来ビタミンK<sub>2</sub>（MK-7）を10<sup>-5</sup>M（最終濃度）加えたもの、②10<sup>-5</sup>M ZnSO<sub>4</sub>を加えたもの、③10<sup>-5</sup>M ビタミンK<sub>2</sub>と10<sup>-5</sup>M ZnSO<sub>4</sub>を併用したもの、④対照（コントロール）として溶媒だけ加えたものの4条件を試験し、培養後の骨組織中のカルシウム量を比較した。カルシウム量は、骨組織乾燥重量あたりのカルシウム量で表した。乾燥重量は、骨組織を110℃で24時間乾燥し、測定した。カルシウム量は、乾燥した骨組織を120℃にて48時間、3ml硝酸溶液により分解し、原子吸光計で測定した。

【0021】【実験結果の説明】4日間後肢不荷重状態（骨形成が障害される）で飼育したラット（5匹）の大腿骨骨幹端部組織を用いて、培養液に天然ビタミンK<sub>2</sub>（メナキノーン7）、亜鉛を単独あるいは混合して添加し、48時間後のカルシウム量を測定した結果を表1に示す。

【0022】

50 与量45mgでは副作用が現れることがあるため、骨粗鬆症予防のためにはこれより少ない量のビタミンK<sub>2</sub>の摂取が望まれるが、本発明によれば、ビタミンK<sub>2</sub>の単独投与では骨粗鬆症の改善、予防に効果が現れないような投与量であっても、亜鉛と共に摂取することにより、ビタミンK<sub>2</sub>と亜鉛が相互作用し、より高い骨作用が促進されることが明白である。本発明組成物は、副作用がない抗骨粗鬆症効果ゆえ、若い時期から日常的に予防目

的で摂取することができるため、個人の老後の生活の質を守るだけでなく、高齢化社会の医療費削減への貢献が期待できる。同時に、本発明により提供できる組成物は、ビタミンK<sub>2</sub>と亜鉛を同時に摂取でき、栄養成分の強化も行うことができる。

#### 【0024】試験例2 安全性試験

実施例1で調製した粉末製剤および実施例3で示した錠剤の急性毒性試験を以下の方法で行った。

【試験方法】4週齢のd d y系マウスのオスを1群10匹使用した。被検物質の投与が個体体重に対して10g / kgおよび5g / kgの2群を編成し、18時間絶食した後、マーゲンゾンデを用いて強制経口投与した。マウスは恒温高湿の条件で飼育し、投与日を0として各個体の体重を測定しつつ、7日間一般症状および生死の状

＊ 態を観察した。この間水と餌は自由に与えた。

【0025】【試験結果】粉末製剤（実施例1）ならびに錠剤（実施例3）とも、死亡例は認められず、体重も順調に増加した。また、外観も通常のマウスと何ら変わりなかった。したがって、両被検物質とも、LD<sub>50</sub>は10g / kgより大きく、極めて安全な組成物であることがわかった。また、ビタミンK<sub>2</sub>、亜鉛とも食品中に広く含まれているものであることから、慢性毒性に関しても極めて安全性の高い素材であると判断される。

#### 【図面の簡単な説明】

【図1】試験ラットの飼育状態を示す斜視図である。

#### 【符号の説明】

- 1 ラット
- 2 ワイヤー

【図1】

